

Peter Hirsch, Jörg Siebert, Institut für Allgemeine Mikrobiologie

Die Vielfalt der Mikroorganismen Im hypersalinen Ekho Lake (Vestfold Hills, Ostantarktis)

Ekho Lake, im eisfreien Gebiet der Vestfold Hills gelegen, wurde im Januar und Februar 1990 von den Autoren in Zusammenarbeit mit ANARE (Australian National Antarctic Research Expedition) mikrobiologisch untersucht. Dieser langgestreckte See entstand vermutlich aus einem Fjord, der nach der letzten Eiszeit durch Landhebung seine Verbindung mit dem Meer verloren hatte. Starke Verdunstung ließ den Wasserspiegel um fast 10 m absinken, wobei das bereits salzreiche Meerwasser weiterhin konzentriert wurde. Messungen aus dem Jahre 1978 hatten in 30 m Tiefe eine Salinität von 158 ergeben, während zwischen 5 m und 12 m Tiefe 71-72 gemessen wurden. Trotz einer Eisdecke an der Oberfläche war das Wasser in 22 m Tiefe mit $+16,4^{\circ}\text{C}$ erstaunlich warm. Diese Beobachtungen deuteten an, daß der See "heliothermal" war, d. h. daß die unteren Schichten durch Sonneneinstrahlung aufgeheizt wurden. Komplizierte Schichtungen und interessante Mikroorganismen-Gesellschaften waren daher von dort zu erwarten.

Physikalische Messungen

Im Januar/Februar 1990 wurden fünf Temperatur- und Salinitätsprofile der aeroben Zone (0-24 m) im Bereich der tiefsten Stelle des Sees aufgenommen. In all diesen Fällen konnten drei Schichten mit verschiedener Salinität beobachtet werden: die Oberschicht (0-3 m) mit niederem Salzgehalt (9,5-35), bedingt durch den Zufluß von Schneeschmelzwasser und durch Aufschmelzen des Eises, ferner eine Mittelschicht (4-15 m) mit konstanter Salinität zwischen 59 und 77 und der untere Bereich (16-38 m Tiefe) mit ansteigender Salinität (81-165). Abb. 1 zeigt das Profil vom 7.2.1990 als Beispiel. Zwischen den drei Schichten gab es scharf ausgeprägte Grenzbereiche, von denen angenommen wird, daß sie wie Einwegspiegel die Sonneneinstrahlung nur nach unten durchlassen, und daß durch die nach unten reflektierte Strahlung die Mittel- und Unterschicht erwärmt wird. So lag unterhalb der zweiten Grenzschicht die Temperatur bei $+19^{\circ}\text{C}$, während die Oberfläche zunächst noch Eis und später $+3,6 - 5,3^{\circ}\text{C}$ hatte. Die pH-Werte schwankten in der aeroben Wassersäule nur geringfügig: sie verringerten sich von 8,1 auf 6,8 von der Oberfläche zur Oxykline.

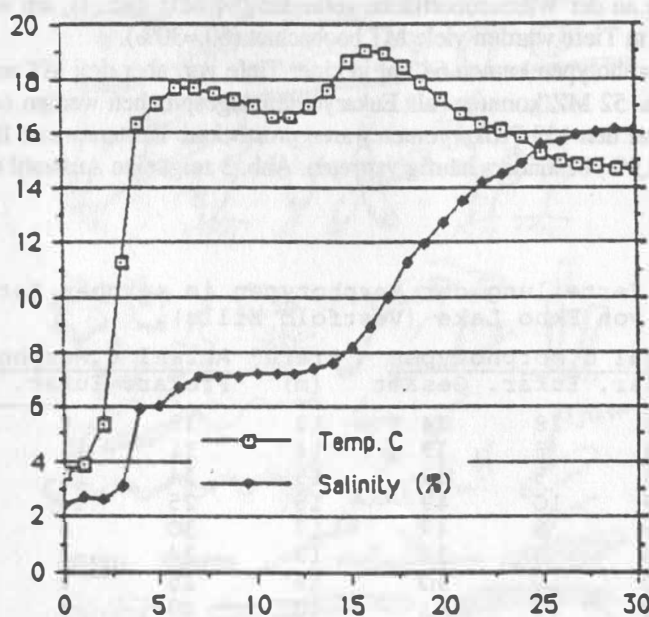


Abb.1

Zellzahl-Bestimmungen

Die Gesamtzellzahlen aller Mikroorganismen wurden am 20.1.1990 durch Auszählen der mit Fluorochrom DAPI angefärbten Zellen ermittelt: sie schwankten im aeroben Bereich der Wassersäule zwischen $0,46 \times 10^6$ und $2,18 \times 10^6$ Zellen pro ml, wobei Zellketten als Einzelorganismen gezählt wurden. Im oberen Teil des anaeroben Bereiches (24-25 m) waren es maximal $2,88 \times 10^6$ /ml. Für die Bestimmung von Lebendzellzahlen wurden 0,1 ml Wasserproben (oder deren Verdünnungen) auf drei verschiedene Nährböden (je 3 Parallelen) ausgestrichen. Medium PYGV für oligotrophe Bakterien enthielt außer Vitaminen je 250 mg/l von Bacto Pepton, Hefeextrakt und Glucose. Ein zweiter, reicherer Nährboden enthielt (g/l): Glycerol - 10; D,L-Asparagin, D,L-Arginin und L-Asparaginsäure (zusammen) - 1,28; lösliche Stärke - 5,0; Mineralsalzlösung und CaCO_3 - 2,0. Ferner wurde hierfür auch ein Pepton-Dextrose-Agar verwendet.

Die Lebendzellen auf diesen Nährböden variierten erheblich bei verschiedenen Tiefenproben: die höchsten Keimzahlen ergab PYGV, die niedersten der Pepton-Dextrose-Agar. Der höchste Wert wurde mit PYGV bei einer 14 m-Probe erhalten: $2,56 \times 10^3$ Zellen/ml. Dieser Wert lag damit um fast drei log niedriger als die entsprechende Gesamtzellzahl. Hieraus kann geschlossen werden, daß entweder das Medium PYGV nicht günstig oder ein erheblicher Anteil der Gesamtzellen nicht mehr vermehrungsfähig war. Vermutlich war aber PYGV nicht adäquat, obgleich dieser Nährboden (wie auch die beiden anderen Medien) mit salzhaltigem Wasser der jeweils entsprechenden Tiefe angesetzt worden war. Ein weiterer Grund könnte in zu niedrigen pH-Werten der Nährböden gesucht werden.

Morphologische Diversität

Zur Erfassung der Formen-Vielfalt eines Gewässers ("Bestandaufnahme") können Glas-Objektträger im Wasser exponiert werden, um so die sich anheftenden Mikroorganismen mikroskopieren und fotografieren zu können (HENRICI & JOHNSON, 1935). So wurden am 20.1.90 in Tiefenabständen von 1 m je zwei Objektträger an einer Schnur in den See gehängt und für 8 Tage exponiert. Nach dem Trocknen und kurzer Hitze-fixierung wurden alle Objektträger gründlich auf das Vorkommen verschiedener Morphotypen untersucht. Ein Morphotyp ("MT") ist dabei definiert als ein Mikroorganismus mit erkennbarer Form, Größe, Pigmentierung, Aggregation etc. In Abb. 2 wird eine MT-Tabelle für Bakterien gezeigt.

Bei der Auswertung des Exponierungsversuches und von weiter unten erwähnten Anreicherungen zeigten sich große Unterschiede zwischen den verschiedenen Tiefen: keine zwei Tiefen hatten die gleichen Morphotypen. Die größte Diversität wurde an der Wasseroberfläche gefunden (84 MT; Tab. 1), am wenigsten MT gab es in den 25 m Proben. Auch in 6 m Tiefe wurden viele MT beobachtet (60,=30%).

Von den insgesamt 191 Morphotypen kamen 64 nur in einer Tiefe vor, aber drei MT wurden in der ganzen aeroben Wassersäule gefunden. 52 MZ konnten als Eukaryonten angesprochen werden (= 27,2 %), doch fehlten Pilze oder Hefen völlig. Unter den 139 Prokaryonten waren prosthekatete Bakterien mit 18 MT (9,4%) und knospende Formen mit 17 MT (8,9%) besonders häufig vertreten. Abb. 3 zeigt eine Auswahl typischer Formen.

Tabelle 1: Verteilung der Morphotypen im aeroben Bereich von Ekho Lake (Vestfold Hills).

Tiefe (m)	Anzahl d.Morphotypen			Tiefe (m)	Anzahl d.Morphotypen		
	Prokar.	Eukar.	Gesamt		Prokar.	Eukar.	Gesamt
0	56	28	84	13	39	8	47
1	34	5	39	14	31	11	42
2	28	5	33	15	34	11	45
3	39	10	49	16	25	14	39
4	39	8	47	17	30	6	36
5	33	5	38	18	34	3	37
6	50	10	60	19	25	2	27
7	40	11	51	20	29	5	34
8	39	12	51	21	26	0	26
9	42	9	51	22	27	3	30
10	39	9	48	23	29	1	30
11	37	6	43	24	20	0	20
12	39	5	44	25	7	0	7

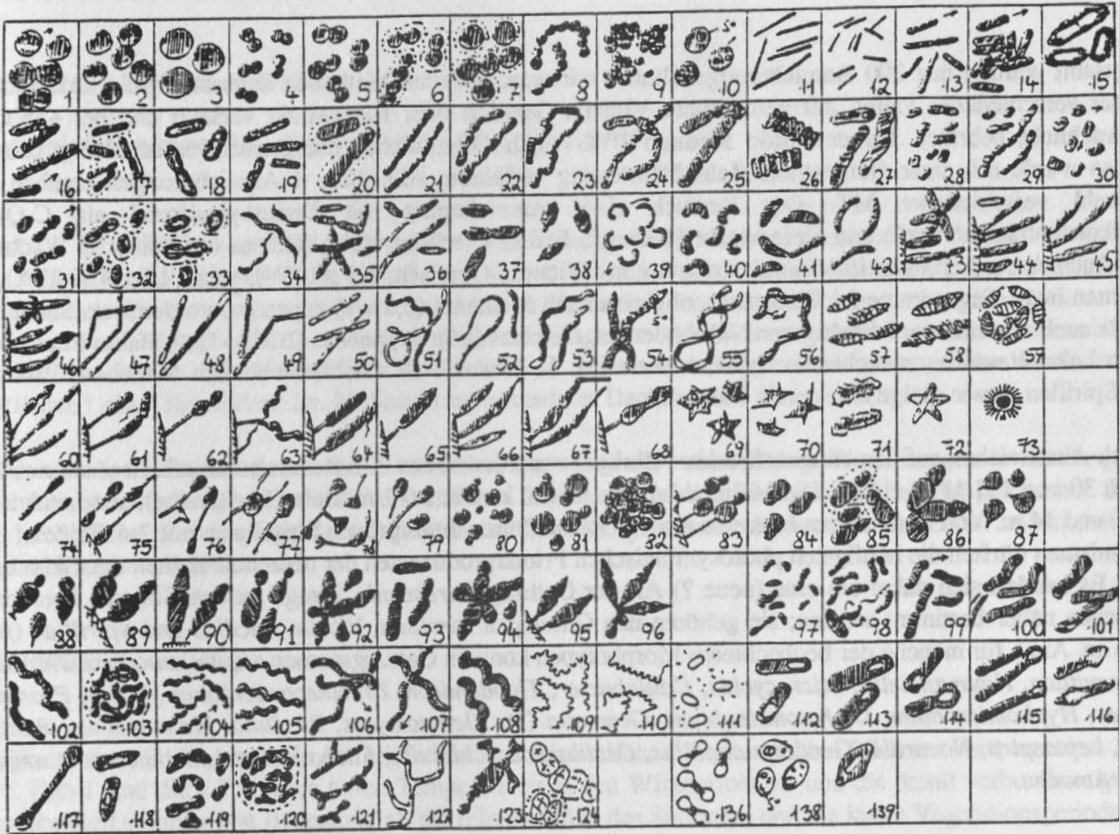


Abb.2 : Morphotypen-Tabelle für Prokaryonten aus dem Ekho Lake

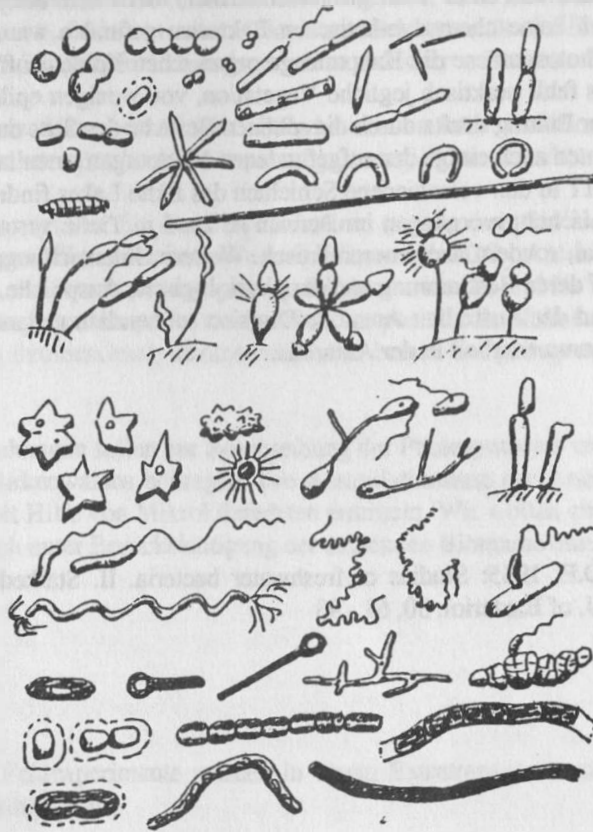


Abb.3: Auswahl typischer Prokaryonten-
Formen aus dem Ekho Lake

Anreicherungen und Reinkulturen

Insgesamt wurden fast 200 Anreicherungskulturen mit verschiedenen Methoden angesetzt. So wurde Probenwasser verschiedener Tiefen mit verdünntem Vitamin-Gemisch oder Hefeextrakt versetzt und bei +15°C im Schwachlicht bebrütet. Ferner wurde Medium PYGV (für Oligotrophe) mit Probenwasser 20%ig beimpft; ebenso wurde mit einer Hefeextrakt-Malat-Nährlösung verfahren. Alle diese 4 Anreicherungen ergaben eine Vielzahl verschiedener MT. Der Versuch einer Anreicherung mit Dimethylsulfoxid als C-Quelle (Endkonzentration 1mg/l) und Hefeextrakt (100mg/l) bei 15°C schlug völlig fehl: es trat keinerlei Wachstum auf. Auch Anreicherungen in Mineralsalzlösung mit Vitamin-Gemisch, 0,5 g/l KNO₃ und 1,0 g/l K₂HPO₄ erbrachten in 15 Tagen keinerlei Wachstum, obgleich auch Methanol (0,5 v/v) zugesetzt worden war. Schließlich wurde auch mit einem reichhaltigeren Nährboden angereichert (g/l): Trypticase (BBL) -15,0; Bacto Pepton -5,0; Ekho Lake-Wasser entsprechender Salzkonzentration. In diesem Fall wuchsen reichlich Stäbchen, Vibrien und Spirillen, sowie einige knospende Bakterien.

Durch Ausstreichen auf den entsprechenden Nährboden wurden bisher 135 Reinkulturen erhalten; sie repräsentieren 30 von 191 MT (=16%). Die Mehrzahl dieser Isolate kam aus 0-1 m Tiefe (55 Stämme), aber auch aus 4, 6, 10 und 14 m. Von besonderem Interesse sind 10 Reinkulturen eines grünen Flagellaten mit 2-4 Geißeln: diese Organismen dürften die häufigsten photosynthetischen Primärproduzenten der oberen Schichten des Ekho Lakes sein. Es handelt sich dabei um eine (neue ?) Art der Gattung *Tetraselmis*. Einige weitere Stämme konnten inzwischen näher bestimmt werden; sie gehören den Gattungen *Pirellula*, *Vibrio*, *Bacillus* und *Spirillum* (sensu lato) an. Auch für manche der beobachteten Morphotypen konnten Gattungsnamen ermittelt werden: *Thiocapsa*, *Chromatium*, *Naumanniella*, *Microcyclops*, *Caulobacter*, *Thiodendron*, *Prosthecomicrobium*, *Stella*, *Prostheco-bacter*, *Hyphomicrobium*, *Dichotomicrobium*, *Gemmata* (?), *Planctomyces*, *Pirellula*, *Mehitylosinus*, *Bdellovibrio*, *Leptospira*, *Nocardia*, *Geodermatophilus*, *Oscillatoria*, *Chlorella*, *Stichococcus* *Acanthocopsis unguicula*, *Amoeba*.

Ausblick

Die vorliegenden Untersuchungen haben gezeigt, daß die sehr unterschiedlichen und z.T. besonders warmen Tiefenschichten des Ekho Lakes von einer Vielzahl verschiedener, meist heterotropher Mikroorganismen bewohnt werden. Da bisher noch keine chemosynthetischen Bakterien gefunden wurden, liefern vermutlich die grünen Flagellaten mit ihrer Photosynthese die Hauptmenge organischen Kohlenstoffs an die heterotrophen Organismen. Außerhalb des Sees fehlt praktisch jegliche Vegetation, von wenigen epilithischen Flechten abgesehen. Ein weiterer, aber geringer Eintrag dürfte durch die seltenen Besuche des Sees durch Vögel (z.B. Skuas) erfolgen. Auf diesem Wege könnten auch einige der aufgefundenen Mikroorganismen in den See gelangt sein.

Die erstaunliche Vielfalt der MT in den verschiedenen Schichten des Ekho Lakes findet vielleicht eine Erklärung durch das Fehlen von Durchmischungsvorgängen im Bereich ab ca. 5 m Tiefe: vermutlich ist Ekho Lake nicht nur hypersalin und heliothermal, sondern auch meromiktisch. Weitere Untersuchungen besonders an den Reinkulturen konzentrieren sich auf deren Bestimmung und ökophysiologische Ansprüche.

Den australischen Kollegen und der Australian Antarctic Division sei herzlich gedankt für deren Unterstützung und für die ausgezeichnete Zusammenarbeit in der Antarktis.

Literatur:

HENRICI, A.T.; JOHNSON, D.E. 1935: Studies of freshwater bacteria. II. Stalked bacteria, a new order of Schistomycetes. J. of Bacteriol. 30, 61 - 93